

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1910

THÈSE

N^o 28

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Par Jean CHABERT

Ancien externe des hôpitaux de Paris

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU

FERMENT OXYDANT

ET DE

LA CYTOLOGIE DU LAIT DE FEMME

Président : M. MARFAN, professeur.

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, PLACE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1910

28

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1910

THÈSE

N.°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Par Jean CHABERT

Ancien externe des hôpitaux de Paris

CONTRIBUTION A L'ETUDE

DU

FERMENT OXYDANT

ET DE

LA CYTOLOGIE DU LAIT DE FEMME

Président : M. MARFAN, professeur.



PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, PLACE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1910

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen.	M. LANDOUZY.
Professeurs	MM.
Anatomie	NICOLAS.
Physiologie	CH. RICHET.
Physique médicale	GARIEL.
Chimie organique et chimie générale	GAUTIER.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales	ACHARD.
Pathologie médicale	WIDAL.
Pathologie chirurgicale	DEJERINE.
Anatomie pathologique	LANNELONGUE.
Histologie	PIERRE MARIE.
Opérations et appareils	PRENANT.
Pharmacologie et matière médicale	HARTMANN.
Thérapeutique	POUCHET.
Hygiène	MARFAN.
Médecine légale	CHANTEMESSE.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	THOINOT.
Pathologie expérimentale et comparée	CHAUFFARD.
	ROGER.
	HAYEM.
Clinique médicale	GILBERT.
	DEBOVE.
	LANDOUZY.
	HUTINEL.
Maladies des enfants	
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	GILBERT BALLET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAUCHER.
Clinique des maladies du système nerveux	N...
	PIERRE DELBET.
Clinique chirurgicale	QUENU.
	RECLUS.
	SEGOND.
Clinique ophtalmologique	DE LAPERSONNE.
Clinique des maladies des voies urinaires	ALBARRAN.
	BAR.
Clinique d'accouchements	PINARD.
	RIBEMONT-DES-
	SAIGNES.
Clinique gynécologique	POZZI.
Clinique chirurgicale infantile	KIRMISSON.
Clinique thérapeutique	A. ROBIN.

Agrévés en exercice.

MM.			
BALTHAZARD	DESGREZ	LECÈNE	OMBREDANNE
BERNARD	DUVAL (PIERRE)	LENORMANT	PROUST
BRANCA	GOUGEROT	LEQUEUX	RATHERY
BRINDEAU	GREGOIRE	LERI	REITTERER
BROCA (ANDRÉ)	GUENIOT	LÉPER	RICHAUD
BRUMPT	GUILLAIN	MACAIGNE	ROUSSY
CAMUS	JEANNIN	MAILLARD	ROUVIERE
CARNOT	JOUSSET (ANDRÉ)	MORESTIN	SCHWARTZ
CASTAIGNE	LABBE (MARCEL)	MULON	SICARD
CHEVASSU	LANGLOIS	NICLOUX	TERRIEN
CLAUDE	LAIGNEL-LAVAS-	NOBÉCOURT	TIFFENEAU
COUVELAIRE	TINE	OKINCZYC	ZIMMERN

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

Nous désirons ici exprimer notre reconnaissance à nos maîtres d'externat, MM. les professeurs Troisier, Thiroloix, Sébilleau, à M. le professeur Marfan qui nous a inspiré cette thèse et prodigué ses conseils.

Nous tenons à remercier également les professeurs Tuffier, Marion, Bonnaire, sous la direction desquels nous avons poursuivi nos études.

Merci à M. le Dr Weill-Hallé qui a bien voulu nous guider dans nos examens de laboratoire et nos recherches sur la cytologie du lait.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU
FERMENT OXYDANT
ET DE
LA CYTOLOGIE DU LAIT DE FEMME

INTRODUCTION

On sait à l'heure actuelle que le lait ne peut être considéré comme un liquide inerte. Dans la nutrition de l'enfant on doit faire jouer un rôle aux diastases du lait, rôle dont on ne sait encore exactement quelle est l'importance.

Le premier Béchamp en 1882 découvre dans le lait une diastase capable de transformer l'amidon en sucre.

En 1900, M. Marfan montre que le lait frais décompose la monobutyryne en acide butyrique et glycérine.

L'année suivante Nobécourt et Merklen trouvent dans le lait de femme et de quelques mammifères un ferment dédoublant le salol.

Moro et Hamburger constatent l'existence d'une substance coagulant la fibrine.

Quelques auteurs ont soutenu que le lait contenait également des ferments protéolytiques et des alexines.

M. Marfan et son élève Gillet en 1902 étudient un ferment oxydant indirect constant, disent-ils, dans le colostrum, inconstant et anormal dans le lait de femme.

Les études faites jusqu'à ce jour sur cette anaéroxydase aboutissent bien souvent à des conclusions différentes; aussi avons-nous voulu vérifier les points, qui ne semblaient pas élucidés. C'est le résultat de nos recherches et les conclusions, que nous croyons pouvoir en tirer, que nous résumerons dans ce travail.

HISTORIQUE

En 1881 Arnold remarque que le lait de vache cru et frais donne avec la teinture de gaïac une réaction qu'il attribuait à la présence d'ozone dans le lait frais.

Seize ans plus tard, Dupouy (de Bordeaux), étudiant les propriétés oxydantes de certains laits, avance le premier qu'il existe probablement un ferment oxydant dans le lait de vache cru, ferment qu'il ne trouve pas tout d'abord dans le lait de femme ; mais, au cours de recherches faites dans la suite, il constate une action oxydante très légère. Raudnitz en 1899 arrive aux mêmes conclusions que Dupouy. Ces deux auteurs font leurs recherches non seulement avec la teinture de gaïac, mais mettent à profit les études de Bourquelot montrant les réactions des ferments oxydants sur les composés phénoliques ; parmi ces composés l'eau gaïacolée leur semble le réactif de choix.

M. Marfan, reprenant ces recherches, étudie avec Gillet les ferments solubles ; il refait toutes les expériences de Dupouy et se préoccupe plus spécialement du ferment oxydant du lait de femme et du colostrum. Il emploie comme réactifs : la teinture de gaïac, l'eau gaïaculée, l'hydroquinone, la diphénylamine, l'acide pyrogallique et le naphthol. Gillet montre que les propriétés oxydantes ainsi révélées sont bien dues à des ferments solubles ; en effet il en retrouve tous les caractères :

1° Ils sont détruits par une température de 78 à 79°.

La congélation et le refroidissement à — 45° les laissent intacts.

La réaction a son maximum entre 40 et 50°.

2° Ces substances ne dialysent pas.

3° La plupart des antiseptiques diminuent leur action.

L'éther et le chloroforme n'exercent sur eux aucune influence.

M. Marfan consacre dans son *Traité de l'Allaitement* quelques pages à la question des anaéroxydases du lait de femme. Après lui nombre d'auteurs ont étudié la question : Paul Portier consacre une thèse aux oxydases dans la série animale.

Le Dr Cassin cherche à établir la valeur clinique de la réaction des anaéroxydases du lait de femme. Il croit à l'existence de *deux réactions distinctes* : « L'une rouge brique intéressant tout le lait, qui est liée à la période »

colostrale ou à une polynucléose intense comme celle qui existe à la période colostrale et survenant pour une cause quelconque au cours de l'allaitement. » « L'autre, jaune orangé, anneau discoïde se formant dans la partie supérieure du mélange de lait et des réactifs' qui est l'indice du bon lait et indépendante de tout élément cytologique et siège dans le lacto-sérum ainsi que le démontre la centrifugation. »

Le D^r Rochette cherche à tirer de l'existence et de l'intensité de la réaction des anaéroxydases un procédé d'appréciation du lait des nourrices. « La réaction, dit-il, apparaît dans le lait quand le nourrisson prospère, elle n'apparaît pas ou apparaît mal quand l'enfant ne prospère pas. »

Le D^r Maurice Binet voit dans la paraphénylènediamine le réactif de choix pour l'appréciation qualitative de la réaction oxydante. Il considère le ferment comme constant dans le lait de femme. La coloration obtenue est bleue, lorsque le lait appartient à une femme saine, rouge brique lorsqu'il appartient à une femme ayant une infection aiguë ou chronique.

Si de nombreux auteurs se sont attachés à la question, peu arrivent aux mêmes conclusions. Tous sont d'accord sur la nature de la substance qui donne une réaction avec l'eau gaïaculée et l'eau oxygénée et la considèrent comme un ferment oxydant indirect. Cependant Bordas et Touplain, dans un article sur les « Diastases du lait », paru le 19 avril 1909, admettent que

« c'est la caséine ou plutôt le caséinate de chaux qui décompose H^2O^2 et met l'oxygène à un état moléculaire tel qu'il peut exercer une action immédiate sur les substances facilement oxydables comme le gaïacol. » Nous ne nous sommes pas attachés à discuter cette opinion assez récente et, jusqu'à plus ample informé, nous croyons devoir considérer que l'on a affaire à un ferment oxydant indirect ; la substance en cause en présente d'ailleurs bien tous les caractères.

Nous exposerons ici le résultat de nos observations, au point de vue de la fréquence et des caractères de la réaction, question qui n'est pas unanimement tranchée par les auteurs. Nous mentionnerons ensuite les quelques renseignements que nous avons obtenus par l'examen simultané du lait au microscope : nous nous sommes préoccupés de rechercher si quelques rapports existaient entre la présence et l'intensité de la réaction du ferment oxydant d'une part, la cytologie du lait d'autre part. Nous avons été amené ainsi à chercher de quels éléments provient le ferment oxydant.

PREMIÈRE PARTIE

Réaction du ferment oxydant

Technique. — On tire de chaque sein environ 2 centimètres cubes de lait que l'on recueille séparément dans deux tubes à essai. On ajoute à peu près égale quantité d'eau gaïacolée au 1/100 et sans agiter le mélange, à l'aide d'un compte-gouttes, on fait tomber le long des parois du tube V à VI gouttes d'eau oxygénée à 12 volumes. On laisse les tubes au repos. Quelquefois la réaction apparaît dès que l'eau oxygénée arrive au contact du mélange de lait et d'eau gaïacolée. D'autres fois, elle ne se produit qu'après une minute ou deux. Ce temps passé, si la réaction ne s'est pas produite, elle n'apparaît plus et les chargements de coloration qui pourraient survenir dans la suite sont sans valeur et sans intérêt.

La réaction se présente suivant les cas sous deux aspects différents :

1° C'est un disque orangé bien limité apparaissant à

l'union du tiers supérieur et des deux tiers inférieurs du mélange, le reste du liquide garde sa couleur primitive.

2° C'est une réaction plus foncée tirant sur le rouge brique et se diffusant dans tout le liquide.

Dans quelques cas la réaction n'est pas nettement limitée; sans être diffusée à tout le liquide, le disque s'étend sur une assez grande hauteur, et le liquide est teinté un peu au-dessus et un peu au-dessous du disque coloré. Ces cas, nous semble-t-il, doivent se rattacher au premier aspect de la réaction.

Nos examens ont porté sur le lait de quarante-six femmes en cours de lactation. Chez certaines nous n'avons pris du lait qu'une seule fois, chez d'autres nous avons fait plusieurs jours de suite ou à des temps plus ou moins rapprochés différents examens.

Nous avons examiné des laits à différentes époques de l'allaitement allant du quinzième jour au quinzième mois.

En effet, nous n'avons pas fait porter nos recherches sur le colostrum. Nous avons cependant vérifié ce qui avait été dit à ce sujet et nous avons trouvé que la réaction diffuse existait constamment jusqu'au cinquième ou sixième jour et disparaissait généralement du cinquième au dixième jour, ne se prolongeant que très rarement jusqu'aux douzième et treizième jours.

Nous appellerons *réaction normale* la réaction se présentant sous l'aspect d'un disque orangé et *réaction*

colostrale la réaction diffuse, à cause de sa constance dans le colostrumet, de l'identité d'aspect de la réaction diffuse de certains laits et de cette réaction du colostrum.

Sur 77 prises de lait voici les résultats que nous avons obtenus variables souvent d'un sein à l'autre dans le cas de prises simultanées dans les deux seins.

	Sein droit	Sein gauche
Réaction normale. . .	60	58
Réaction colostrale. .	6	6
Réaction intermédiaire	8	10
Pas de réaction. . .	6	6

Il nous semble d'ailleurs intéressant de présenter en un tableau l'ensemble des résultats obtenus. Nous désignerons par différents signes les réactions d'intensité différente.

Pour la réaction colostrale nous la désignerons par++++.

Pour quelques rares réactions diffusées à tout le liquide, mais dont le disque est très net et de coloration plus intense nous adopterons (+++).

Nous désignerons la réaction intermédiaire par(++), la réaction normale par (+), les réactions très faibles par (±); enfin pour indiquer qu'il n'y a pas de réaction, nous aurons recours au signe (—).

Outre l'intensité de la réaction, nous notons à quel moment a été faite la prise de lait par rapport à la dernière tétée ; (+) veut dire qu'il y a plus de deux heures, (—) signifie que la dernière tétée a eu lieu peu de temps avant la prise de lait.

Nous avons enregistré également la rapidité d'apparition de la réaction. Voici comment nous la désignons : + la réaction est immédiate, ± la réaction apparaît après cinq à quinze secondes, — elle ne se voit qu'au bout d'une demi, d'une ou de deux minutes après l'adjonction d'eau oxygénée au mélange de lait et d'eau gaïacolée.

Date	Nom	Age de l'enfant	Tétée	SEIN DROIT		Tétée	SEIN GAUCHE	
				Réaction	Rap- dité		Réaction	Rap- dité
19 janv.	T.	4 mois	+	+	-	-	+	+
17 janv.	V.		+	+	-	+	+	-
24 janv.			+	+	-	+	+	-
1 ^{er} fév.			+	+	-	+	+	-
22 janv.	B.	5 mois	-	+	-	-	+	-
26 janv.			-	+	-	-	+	-
24 janv.	C.		-	+	-	peu tété	+	-
25 janv.			+	+	-	peu tété	+	-
26 janv.			-	+	-	peu tété	+	-
29 janv.			+	+	-	peu tété	+	-
2 fév...			-	+	-	peu tété	+	-
27 janv.	N.	3 sem.	+	+	-	-	+	-
1 ^{er} fév.			+	+	+	+	++	+
8 mars.			+	++	+	+	++	+
22 mars			+	+	+	-	+	+
26 janv.	G.	3 mois		+	-		+	-
29 janv.	F.		-	+	-	-	+	-
31 janv.	T.		+	++	+	+	+	-
			-	++	+	-	+	-
1 ^{er} fév.	G.	16 mois	+	-		+	-	
2 fév...	F.	7 sem.	+	++++	+	+	+	-
4 fév...			+	++	-	+	+	-
9 fév...			-	+	-	-	+	-
2 fév...	R.	16 mois		pas de lait		+	+	-

Date	Nom	Age de l'enfant	Tétée	SEIN DROIT		Tétée	SEIN GAUCHE	
				Réaction	Rap- di-té		Réaction	Rap- di-té
6 fév...	T.	13 mois	+	+	—	+	+	—
7 fév...			—	+	<u>+</u>	+	+	<u>+</u>
15 fév...			+	+	<u>+</u>	—	++++	+
8 fév...	H.	11 mois	—	+	—		pas tété	
9 fév...	F.	6 mois	—	+	+	—	++	—
10 fév...	C.	3 sem.	+	+	—	—	++++	—
15 fév...	C.	15 mois	—	+	—	—	+	—
15 fév...	L.	9 mois	+	+	—	—	+	<u>+</u>
15 fév...	P.	11 mois	+	+	—	+	++++	+
16 fév...	M.	3 mois	+	+	—	+	+	—
17 fév...			+	+	—	+	+	—
23 fév...			—	+	—	—	+	—
17 fév...	C.	3 mois	+	+	—	+	+	—
23 fév...			—	+	—	—	+	—
2 mars.			—	+	+	—	++	+
18 fév...	V.	7 mois	+	+	—	+	++	—
23 fév...			—	+	<u>+</u>	—	+	<u>+</u>
18 fév...	L.	9 mois	+	+	—	+	+	—
23 fév...			+	+	—	—	+	—
26 fév...	F.	10 mois	+	+	—	+	+	—
28 fév...	T.	3 mois	+	++	—	+	+	—
2 mars.			+	+	—	+	+	—
5 mars.	F.	2 mois	+	+	—	—	+	—
7 mars.			+	+	—	—	++	—

Date	Nom	Age de l'enfant	Tétée	SEIN DROIT		Tétée	SEIN GAUCHE	
				Réaction	Rapacité		Réaction	Rapacité
12 mars			—	+	—	—	++	—
5 mars.	M.	1 mois	+	+	—	+	+	—
7 mars.	L.	5 mois		pas de lait		—	+	—
9 mars.	L.	15 jours	—	+	—	—	+	—
15 mars	B.	1 an	—	+	—	—	++	—
15 mars	D.	4 m. 1/2	+	+++	+	+	+	+
16 mars	P.	2 m. 1/2	—	+	—	—	+	—
18 mars	L.	7 sem.	+	+	—	—	++++	+
19 mars			+	+	+	—	++	+
7 avril.			+	++++	+	—	++++	+
8 avril.			—	++	—	+	++++	+
22 mars	C.	4 mois	+	+	—	+	++	—
22 mars	R.	2 mois	+	++	—	+	+	—
23 mars			+	+	—	+	+	—
31 mars	P.	14 mois	+	+++	—	+	+	—
14 avril	H.	3 mois	—	++++	+	—	+	—
15 avril	B.	2 mois	+	+	—	+	+	—
19 avril	C.	2 mois	—	++++	+	—	+	—
22 avril	F.	3 sem,	+	—		+	—	
25 avril			+	—		+	—	
27 avril	M.	9 mois	+	+	—	+	+	—
8 mai..	G.	2 mois	+	+	—	+	+	—
9 juin..	L.	20 mois	+	+	—	+	+	—
9 juin..	V.	6 mois	+	—		+	—	

Date	Nom	Age de l'enfant	Tétée	SEIN DROIT		Tétée	SEIN GAUCHE	
				Réaction	Rapidité		Réaction	Rapidité
12 juin.	C.	15 jours	+	—	—	+	—	—
12 juin.	H.	11 mois	—	++	—	—	+	—
25 juin.	T.	2 mois	+	+	+	+	+	+
26 juin.			+	+	+	—	+	+
30 juin.	C.	4 m. 1/2	+	+	+	—	+	+
30 juin.	T.	3 mois	—	—	—	—	—	—
30 juin.	R.	1 mois	+	+	—	+	+	—
2 juillet	L.	5 mois	+	+	+	+	+	+
2 juillet	S.	2 m. 1/2	+	+	—	+	+	—

La réaction normale, surtout si on englobe dans son cadre, comme nous croyons que l'on doit le faire, les réactions présentant un disque un peu plus large et moins bien limité et les réactions faibles, la réaction normale, disons-nous, mérite bien son nom car elle est celle de 83 % des cas en considérant la moyenne des deux seins. On la rencontre également à toutes les périodes de la lactation.

Si nous avons trouvé cette réaction normale beaucoup plus fréquemment que ne l'avait observé M. Marfan, c'est, comme il nous l'a fait remarquer lui-même, le fait d'une différence de technique. Tandis que nous faisons la réaction dans un tube à essai, M. Marfan se ser-

vait d'une petite cupule en porcelaine et la réaction, lorsqu'elle n'était pas très intense, passait inaperçue.

La réaction colostrale ne se rencontre que dans 8 à 9 % des cas. L'absence complète de réaction est très rare puisqu'on ne l'observe que 6 à 7 fois pour 100. Nous avons pu, dans des circonstances bien déterminées, obtenir la réaction colostrale à des périodes très variables de l'allaitement, à la 7^e semaine, aux 2^e mois, 3^e mois, 4^e mois, 11^e mois, 13^e et 14^e mois. Dans un seul cas la réaction colostrale était positive dans les deux seins; dans tous les autres cas, un des deux seins présentait une réaction normale.

La réaction oxydante a fait défaut dans des laits ayant respectivement 15 jours, 3 semaines, 6 mois et 16 mois. Dans tous ces cas, la réaction était absente des deux côtés, excepté dans un cas où elle existait d'ailleurs très faible dans un des seins.

Toutes nos prises de lait ont été faites à des moments différents par rapport aux tétées. Nous l'avons noté soigneusement et nous n'avons pas remarqué qu'il y ait une relation entre la réaction et le moment du prélèvement, quoique le D^r Rochette dise : « La réaction n'existe que sur le lait d'un sein qui n'a pas été donné depuis environ deux heures, comme si l'élaboration du ferment nécessitait un lent travail de la glande productrice. »

Nous avons trouvé la réaction tout aussi bien pendant, immédiatement après une tétée qu'une heure

deux heures ou plus après la tétée. Dans un cas de réaction colostrale, le lait avait été pris moins d'une demi-heure après la tétée, et une autre fois immédiatement après une tétée.

Une autre question est intéressante à considérer. Que se passe-t-il si l'on centrifuge le lait sur lequel on a fait la recherche des anaéroxydases ? Si l'on centrifuge le lait après avoir obtenu la réaction colostrale, il se forme un culot de matière colorée et le liquide en suspension reste à peu près limpide et non teinté, c'est ce qu'avait déjà observé Rochette et nous l'avons constaté à nouveau.

« Quand on centrifuge un lait qui a une réaction normale, il ne se forme aucun dépôt et le liquide reste coloré; la coloration reste même annulaire tout en s'élargissant. » Ici nous ne sommes plus tout à fait de l'avis du Dr Rochette. En effet, comme il le dit, le liquide reste coloré, mais il se forme un culot blanc. Ce culot est certes beaucoup moins considérable que dans le cas de réaction colostrale.

En faisant des centrifugations de lait avant l'adjonction de réactif, nous avons d'ailleurs remarqué très nettement cette différence d'abondance du culot, relativement abondant dans les cas correspondant à une réaction colostrale, de volume beaucoup moindre si la réaction devait être normale, il était encore moins abondant lorsque le lait ne donnait lieu à aucune réac-

tion. Nous reviendrons ultérieurement à l'étude du culot de centrifugation.

La réaction et l'état de santé de la mère

Les femmes dont nous avons examiné le lait étaient pour la plupart bien portantes. Parmi celles dont le lait donnait une réaction normale trois étaient tuberculeuses, une autre avait fait cinq fausses couches antérieures, qui permettaient de soupçonner la syphilis.

Des quelques femmes dont le lait ne donnait pas de réaction, une était enceinte de deux mois et l'enfant qu'elle nourrissait avait 16 mois ; une autre avait deux jumeaux de 3 semaines, dont l'un était atteint d'ictère et les deux refusaient le sein ; une troisième avait un enfant de 3 mois, atteint de diarrhée verte, elle avait cessé de donner le sein trois jours et n'avait recommencé à allaiter que la veille de la prise du lait que nous avons examiné. Chez les deux autres femmes, nous ne trouvons rien d'anormal ; mais malheureusement nous n'avons pu renouveler nos prises de lait les jours suivants et peut-être aurions-nous trouvé une réaction positive et normale.

Si nous considérons les cas où le lait donnait une réaction colostrale, voici ce que nous constatons :

1° F... Mère spécifique.

Enfant né au 7° mois 1/2 de la grossesse.

Agé de 7 semaines.

Lait abondant.

2° D... Mère bien portante.

Enfant bien portant âgé de 4 mois 1/2.

3° L... Mère bien portante.

Enfant de 7 semaines bien portant.

Naissance au 8° mois 1/2 de la grossesse.

Lait abondant.

Le 7 avril la mère se plaint d'une douleur dans le sein gauche.

4° P... Mère bien portante.

Enfant de 14 mois, né à terme, tuberculeux.

5° A... Mère probablement syphilitique.

Une fausse couche de 8 mois et une de 2 mois.

Enfant de 3 mois né à terme (état asphyxique).

Enfant athrepsique.

Lactation abondante.

6° C... Mère syphilitique.

Enfant de 2 mois et 8 jours né à terme.

Lésions de syphilis héréditaire.

Réaction de Wassermann avec le lait : positive.

7° T... Mère tuberculeuse.

Enfant de 13 mois : adénite tuberculeuse.

Lait abondant.

8° Ch... Mère fatiguée, étourdissements, maux de tête, soupçons de bacillose.

Enfant de 3 semaines, né à terme.

Erythème fessier.

9° Pr... Mère bien portante.

Enfant de 11 mois, né à terme.

Bien portant.

Nous ferons remarquer de suite que chez D... et P..., avec le lait desquelles nous avons obtenu des réactions que nous avons qualifiées de colostrales, ces réactions n'étaient pas absolument typiques. Si en effet la réaction est diffuse, l'anneau orangé est plus foncé que la coloration du reste du liquide. On pourrait donc envisager ces deux cas comme un degré plus accentué des cas notés que nous avons rangés dans les réactions normales où le disque orangé était plus haut et accompagné d'une légère coloration du liquide à son voisinage. Nous remarquerons également que dans tous les cas de réaction colostrale typique, l'apparition de la coloration était instantanée, suivait immédiatement l'adjonction de l'eau oxygénée au mélange de lait et d'eau gaïacolée. Dans le cas de la femme D..., l'apparition de la réaction ne se fit qu'après une vingtaine de secondes et avec le lait de la femme P..., elle n'apparaît qu'après plus d'une minute.

Ceci noté, nous voyons que des femmes, dont le lait a donné à un moment quelconque au cours de l'allaitement une réaction colostrale très nette, typique, indiscutable, une seule est bien portante autant que l'inter-

rogatoire a pu nous permettre d'en conclure. Parmi les autres femmes, deux sont nettement spécifiques, une troisième semble l'être. Une des deux femmes nettement syphilitique a des lésions spécifiques cutanées au niveau du sein droit, sein dont le lait donne la réaction colostrale. Une des femmes est nettement tuberculeuse, et l'autre peut être soupçonnée de bacillose. Enfin la femme L..., souffre d'une douleur aiguë dans le sein gauche. Que conclure d'un tel ensemble de faits ?

Il ne nous semble pas téméraire d'avancer que la réaction d'aspect colostré au cours de l'allaitement se rencontre dans le lait des femmes atteintes d'infections chroniques telles que bacillose ou syphilis ou d'infections mammaires aiguës. Nous aurions voulu appuyer nos conclusions sur un plus grand nombre de faits ; mais, quoique nous ayons examiné pendant plus de six mois le lait de toutes les mères donnant le sein qui ont été à la crèche de l'hôpital des Enfants-Malades, ou qui sont venues à la consultation des nourrissons de M. Marfan ; nous n'avons pu trouver un plus grand nombre de laits présentant une réaction d'aspect colostré au cours de l'allaitement.

On peut, croyons-nous, lorsqu'on se trouve en présence d'une femme dont le lait offre une réaction colostrale, soupçonner l'existence d'un état pathologique. On peut considérer cette réaction comme un avertissement, qui engagera à rechercher soigneusement dans les antécédents ou dans l'état actuel de la mère la justification

pathologique de cette intensité anormale de la réaction. Que cette quantité excessive d'anaéroxydases ait une influence sur l'état de l'enfant, nous n'en avons pu trouver la preuve.

L'absence de réaction est une anomalie sans aucun doute, et si nous n'avons pas pu nous faire une opinion dans ce cas, nous croyons cependant qu'elle indique une mauvaise qualité, une insuffisance du lait, dont nous nous promettons de rechercher plus tard la nature.

En résumé, le lait de femme à toutes les périodes de la lactation renferme normalement un ferment oxydant indirect. Ce ferment se trouve, quel que soit le moment où on fait la prise de lait par rapport aux têtées, que le lait soit prélevé avant, après ou au cours de la tétée.

L'absence de la réaction oxydante est une exception et correspond vraisemblablement à une insuffisance de la nourriture.

La réaction normale est un disque orangé bien limité apparaissant à l'union du tiers supérieur et des deux tiers inférieurs du liquide, le reste du mélange ne changeant pas de coloration.

La réaction colostrale au cours de l'allaitement paraît être l'indice d'un état pathologique, elle se présente sous l'aspect d'une réaction diffuse colorant avec autant

d'intensité tout le liquide. La coloration est plus foncée que dans les cas de réaction normale et tend vers le rouge brique. La réaction colostrale semble indiquer chez la nourrice l'existence d'une infection générale chronique ou locale aiguë.

On admet que le lait reprend les caractères du colostrum quand l'allaitement est suspendu ou quand la mamelle est vidée incomplètement. On admet aussi que cette réaction colostrale au cours de l'allaitement est l'indice d'un état inflammatoire. Cette opinion concorde bien avec la proposition que nous formulons plus haut : qu'une infection aiguë locale est suivie de la réaction diffuse. Pourquoi ne pas admettre le même phénomène, lorsque la nourrice est atteinte d'une affection chronique ? Il est plausible qu'à certains moments, sous certaines influences, cette affection chronique détermine une altération de la glande mammaire et provoque, comme l'affection aiguë, l'apparition de la réaction colostrale du lait. Quant à la rétention du lait, on peut la regarder comme donnant lieu à un processus irritatif analogue à celui d'une affection aiguë.

L'existence, d'une infection aiguë ou chronique de la mère, nous semble donc bien être au moins l'une des causes de réaction à aspect colostrale, au cours de l'allaitement.

DEUXIÈME PARTIE

Les anaéroxydases et la cytologie du lait

A quels éléments est dû le ferment oxydant du lait de femme ? Quels rapports existent entre la présence ou l'absence de la réaction, son intensité et la cytologie du lait ? Telles sont les questions auxquelles nous nous sommes efforcés de chercher une réponse. Voici comment nous avons procédé pour nos recherches :

Tout lait dans lequel nous avons recherché le ferment oxydant a été également l'objet d'un examen microscopique. Dans ce but, nous faisons centrifuger 2 ou 3 centimètres cubes de lait de chaque sein, pris en même temps que le lait sur lequel nous faisons la recherche des anaéroxydases. Après avoir subi une centrifugation de vingt minutes au centrifugeur à eau, le lait apparaît divisé en trois couches superposées : la couche supérieure contient la crème ; la couche moyenne est formée par le lacto-sérum, elle est légèrement lou-

che; enfin au fond du tube se forme un culot plus ou moins abondant, suivant les cas, comme nous le disions antérieurement, abondant dans le cas où le lait donne une réaction colostrale, très minime lorsque la réaction est normale.

On décante la crème et le lacto-sérum, le culot resté seul dans le tube à centrifuger; on le dilue dans une faible quantité de sérum physiologique.

On peut utiliser divers colorants, nous nous sommes servi du bleu de méthylène, du triacide d'Erhlich, de l'hématéine-éosine.

Le triacide donne de belles préparations; après fixation par les vapeurs d'acide osmique, on colore pendant vingt minutes et l'on lave à l'alcool absolu. Malheureusement cette coloration est assez délicate et nous avons eu des résultats souvent défectueux. Nous avons alors fait porter nos préférences sur l'hématéine-éosine. Après fixation à l'alcool-éther, on soumet la préparation dix à douze minutes à l'hématéine et deux ou trois à l'éosine.

Avant de passer en revue les résultats que nous avons obtenus, nous rappellerons sommairement le résultat des recherches antérieures sur la cytologie.

D'après M. Marfan, « dès que la sécrétion lactée est définitivement établie, les globules graisseux avec leurs croissants protoplasmiques sont les seuls éléments figurés du lait. »

Pour MM. Weill et Thevenet, dans un lait à sécrétion

parfaite avec excrétion suffisante, on trouve quelques fragments protoplasmiques de 2 à 6 μ , quelques globules blancs très rares, quelques noyaux soit isolés, soit adhérents à un fragment de protoplasme.

MM. Wallich et Levaditi voient dans le lait, en plein allaitement, des globules de lait et des corps en croissant avec ou sans chromatine. En cas de lactation ralentie on trouve, disent-ils, avant la tétée des corpuscules du colostrum nombreux, après la tétée les corps en croissant dominant et quelques rares leucocytes mononucléaires et polynucléaires sont disséminés dans la préparation.

Si nous nous en rapportons à nos recherches, l'examen des préparations montre un très grand nombre de débris protoplasmiques d'aspect varié ; ce sont des petites masses sphériques, des croissants, des corps en raquette ; certains croissants dont les extrémités se touchent, forment un anneau entourant une vacuole qui répond au globule graisseux détaché ; on observe aussi de grandes masses protoplasmiques finement vacuolaires ayant un aspect d'écumoire ; quelques croissants contiennent un noyau allongé dans le sens du grand diamètre du croissant, qui se termine à chaque extrémité par du protoplasme. Quelquefois ces croissants nucléés se ferment comme certains de nature uniquement protoplasmique.

Plus ou moins nombreux, en général au nombre d'un ou deux par champ, on remarque la présence de noyaux

indépendants très décolorés, qui par la coloration par l'hématéine-éosine ont une teinte bleutée pâle ; certains de ces noyaux ont des granulations acidophiles ; quelques-uns se présentent entourés de protoplasme vacuolaire ; ce sont de gros éléments ressemblant à des corpuscules du colostrum ; ils sont rares : on en trouve trois ou quatre dans une préparation, et il n'y en a pas dans toutes. Souvent, mais aussi rares que les précédents, on trouve des corpuscules du colostrum à noyaux lie-de-vin, à protoplasme rose violaté et finement vacuolaire.

Notons également de grands placards protoplasmiques renfermant quatre ou cinq noyaux, disposés sans ordre et le plus souvent pressés les uns contre les autres, comme s'ils devaient entrer en coalescence. Ces derniers éléments, ceux qui ressemblent à de petits corpuscules du colostrum, et les masses protoplasmiques à plusieurs noyaux ne se trouvent pas dans toutes les préparations ; peut-être est-ce leur petit nombre qui fait qu'ils échappent à l'œil de l'observateur, ou qu'ils manquent dans certains frottis, et ils seraient alors dans tous les laits en nombre très restreint. Il existe d'autres éléments que l'on rencontre constamment en petite quantité. Tandis que les débris protoplasmiques de formes variées constituent en quelque sorte le fond de la préparation, l'élément dominant, on voit au milieu d'eux de petites cellules arrondies à noyau central très développé, très fortement coloré entouré d'une

bande très mince de protoplasme ; elles ressemblent aux lymphocytes du sang ; on en rencontre cinq ou six dans chaque champ microscopique. Avec elles en nombre à peu près égal, on voit des éléments de plus grand diamètre, à noyau généralement un peu excentrique, modérément coloré, parfois irrégulier, à protoplasme comme raréfié, d'aspect vésiculeux. Entre ces derniers éléments et les corps granuleux de Donné on observe, croyons-nous, de nombreux intermédiaires.

Donc ce qui caractérise la composition du culot de centrifugation du lait dans les cas où la réaction des anaréoxydases est normale, c'est le très grand nombre des débris protoplasmiques au milieu desquels on remarque différents éléments peu nombreux et particulièrement des cellules ayant l'aspect de lymphocytes, et d'autres ressemblant à des leucocytes mononucléaires.

Si au contraire l'examen porte sur le culot de centrifugation d'un lait donnant la réaction colostrale, l'aspect est tout autre, les débris protoplasmiques sont relativement rares noyés dans les éléments nucléés de différentes sortes. Ce sont de petits corps à aspect de lymphocytes décrits plus haut, ou semblables à des leucocytes mononucléés comme dans le lait normal ; mais les éléments qui prédominent sont, et très nombreux, des polynucléaires pareils à ceux du sang à granulations éosinophiles très nettes. Quelques cellules ressemblent à des corpuscules du colostrum, comme on en trouve en cas de réaction normale et en nombre à peine plus

élevé. Ce qui distingue donc principalement les laits à réaction normale et ceux à réaction colostrale, c'est la présence constante des *leucocytes polynucléaires*, nombreux dans le second cas.

Si le lait n'a pas la réaction des anaéroxydases, l'examen ne montre que des débris protoplasmiques, les autres éléments sont exceptionnels.

Avec l'intensité de la réaction qui peut être plus ou moins intense sans être colostrale varie, croyons-nous, le nombre des éléments à aspect de lymphocytes ou de eucocytes mononucléés, d'autant plus nombreux que la réaction est plus intense, et lorsque celle-ci, sans être colostrale, forme un anneau orangé avec diffusion plus ou moins étendue autour de cet anneau, on voit apparaître quelques polynucléaires.

Rappelons ici les faits antérieurement notés : dans les cas où les réactifs ne montrent qu'un disque orangé, après centrifugation la coloration reste localisée dans le liquide surnageant, le culot blanc n'est pas coloré ; si la réaction est colostrale, le culot de centrifugation est d'une teinte rouge brique intense, le lacto-sérum est à peine teinté d'une couleur orangée très légère.

Rapprochons de ces faits la présence en grand nombre des polynucléaires dans les laits à réaction colostrale et dans ceux-là seulement.

De ces constatations nous croyons pouvoir conclure que les polynucléaires donnent le ferment oxydant décelé par l'eau gaïaculée et l'eau oxygénée. A l'examen

du culot d'un lait à réaction colostrale sur lequel on a fait la réaction on remarque que certains éléments sont colorés en rouge brique ; si l'examen porte sur le culot de centrifugation d'un lait à réaction normale traité par l'eau gaïacolée et l'eau oxygénée, on ne voit aucun élément sur lequel se soit fixée la coloration. Or, le seul élément présent dans le premier cas, absent dans le second, est le *polynucléaire*.

Nous croyons donc pouvoir admettre que le ferment oxydant du lait de femme vient des polynucléaires. Comment alors se fait-il que la réaction existe normalement et que dans les cas de réaction normale nous ne trouvions pas de polynucléaires. Peut-être alors, pourrait-on, avec le D^r Cassin, admettre l'existence de deux réactions distinctes exposées précédemment.

Il est vraisemblable qu'une certaine quantité de ferment diffuse toujours dans le lacto-sérum du lait normal. Mais comment ce ferment oxydant physiologique se trouve-t-il dans le lait ? La distinction du D^r Cassin ne répond pas à cette question. Nous nous sommes rappelé ce fait énoncé par Bunge, que le rapport entre les différentes substances inorganiques est à peu près identique dans le lait et dans l'ensemble de l'organisme du jeune animal ; d'où cette conclusion que la cellule épithéliale de la glande mammaire prend à un plasma sanguin d'une composition différente les sels minéraux nécessaires au jeune animal exactement dans les proportions voulues pour lui permettre de se développer

et d'acquérir une composition semblable à celle des parents. Ainsi, comme le dit M. Marfan, « aucune des principales substances organiques contenues dans le lait ne préexiste dans le sang et les sels de celui-ci ne passent dans le lait que dosés par l'épithélium de la mamelle. La glande mammaire n'est donc ni un simple filtre, ni une glande banale comme les glandes sébacées, c'est un appareil sécrétoire hautement différencié, dont la cellule a des fonctions actives et complexes. »

Pourquoi ne pas admettre que la glande mammaire laisse passer du sang dans le lait la quantité de ferment oxydant utile à l'enfant? L'organisme de l'enfant qui vient au monde est plus ou moins achevé. L'élaboration des enzymes qui sont les stimulateurs et les régulateurs des échanges nutritifs est peut-être moins active qu'il ne serait nécessaire. Il est légitime de se demander si ces stimulines se produisent en quantité suffisante ou si celles que l'organisme élabore sont suffisamment actives, surtout si l'on songe que le jeune organisme à ce moment est à une période où la croissance est rapide. On sait que le nouveau-né élabore peu de zymases digestives. Ne nous occupant que du ferment oxydant, qui nous intéresse ici, on peut donc prévoir que la glande mammaire tire de l'organisme maternel ce ferment, qui pourra être un suppléant utile aux zymases digestives rares de l'enfant.

Nous croyons donc pouvoir émettre cette opinion que les anaéroxydases dont on constate la présence dans le

lait normal proviennent du sang et des éléments du sang qui en produisent : *les polynucléaires*.

Dans les cas de lait à réaction colostrale, le ferment est mis en liberté, en grande partie, directement dans le lait par les polynucléaires, qui y sont en assez grande abondance. L'existence de deux ferments oxydants comme le croit le Dr Cassin, nous paraît donc douteuse.

Les polynucléaires qui émanent évidemment du sang, affluent dans la mamelle lorsqu'une infection quelconque crée un appel leucocytaire ou lorsque se produit une congestion physiologique au niveau de la mamelle par exemple, sous l'influence d'une rétention lactée. La nécessité d'une reprise des éléments non déversés au dehors détermine l'afflux des polynucléaires.

Origine et nature des éléments du lait

Si nous avons conclu aisément à l'origine sanguine des polynucléaires qui sont dans certains laits, il nous reste à élucider la nature des autres éléments que l'on trouve dans le culot de centrifugation du lait de femme.

Les débris protoplasmiques de formes variées, qui sont l'élément dominant dans les laits à réaction normale, sont à notre avis d'origine glandulaire, « entraînés

comme dit M. Marfan, au moment de la déhiscence de la cellule épithéliale avec les globules gras ». Nous croyons à la même origine pour les croissants nucléés ; le globule gras dans ce cas a été suivi non seulement de protoplasme, mais encore de tout ou partie du noyau de la cellule glandulaire. Les éléments, ayant l'aspect de leucocytes mononucléaires, d'un diamètre de 8 à 15 μ , à noyau un peu excentrique, à protoplasme d'aspect vésiculaire, déjà décrits, ont donné lieu à de nombreuses discussions. Les uns avec Czerny admettent l'origine leucocytaire de ces éléments. Pour d'autres auteurs, ils seraient d'origine glandulaire. Nous nous rangeons à cette dernière opinion. En effet si nous considérons une préparation, nous voyons de petites boules protoplasmiques, des corps en croissants, les uns purement protoplasmiques, d'autres nucléés, des masses protoplasmiques finement vasculaires ayant un aspect d'écumoire, enfin les cellules à aspect de leucocytes mononucléaires déjà décrits.

Tous ces éléments sont, croyons-nous, d'origine glandulaire. Parfois un simple débris protoplasmique se détache avec un globule de graisse, et c'est alors une boule protoplasmique ou un corps en croissant ; dans les cas où plusieurs globules graisseux sont retenus dans une même masse protoplasmique et que celle-ci se détache avec eux, il en résulte la formation de ces éléments purement protoplasmiques, finement vasculaires, ayant un aspect d'écumoire. Le noyau peut

accompagner le protoplasme dans sa chute, dans ce cas c'est un croissant nucléé. Enfin si la cellule glandulaire se détache entière, elle prend, dans le lait, cet aspect de leucocytes mononucléés que nous avons retrouvés dans nos préparations. La cellule glandulaire peut, au moment où elle abandonne son point d'implantation, être bourrée de globules graisseux; elle forme alors dans le lait les corpuscules du colostrum. Nous avons observé d'ailleurs tous les intermédiaires entre les éléments à aspect de leucocytes mononucléés et ceux que nous décrivons sous le nom de corpuscules du colostrum.

Dans la plupart des laits à réaction normale, nos préparations nous ont décelé la présence, en très petit nombre, il est vrai, de ce que nous croyons des corpuscules du colostrum. Dans les cas où le lait a une réaction colostrale, ces éléments sont à peine plus nombreux; le lait, à notre avis, ne fait pas à proprement parler retour à l'état colostré, il y a seulement, comme nous le révèle l'examen microscopique, afflux de polynucléaires amenés, croyons-nous, par un début d'infection aiguë, capable de rétrocéder, ou par l'existence d'une infection chronique. *En résumé ces laits se rapprochent du colostrum par l'existence de réaction oxydante intense et la présence de polynucléaires; ils s'en distinguent cependant par la faible abondance des formes cellulaires spéciales au colostrum et ne méritent pas à cet égard le nom de lait colostré.*

Il est possible que l'on observe sous certaines influences au cours de l'allaitement le retour à l'état, colostré proprement dit, il n'en a pas été ainsi dans les cas soumis à notre observation.

CONCLUSIONS

1° La présence de ferments oxydants dans le lait de femme frais peut être mise en évidence par différents réactifs.

L'emploi de l'eau gaïaculée au 1/100° et de l'eau oxygénée est la méthode de choix. L'apparition d'un disque orangé bien limité situé à l'union du tiers supérieur et du tiers moyen du mélange est constante dans le lait de femme normal lorsqu'on recherche la réaction avec certaines précautions.

2° L'absence de cette réaction est une exception et paraît d'un mauvais pronostic pour l'avenir de la lactation.

3° Une réaction diffuse, intense, tendant à la coloration rouge brique de la totalité du liquide, réaction du type colostral, est une exception ; elle témoigne d'une

anomalie de la sécrétion lactée sauf dans les premiers jours de l'allaitement.

4° Cependant la présence d'une réaction colostrale au cours de l'allaitement ne nous a pas paru accompagnée d'un état pathologique du nourrisson, elle est généralement unilatérale et passagère.

5° Toute réaction colostrale est accompagnée d'un afflux de polynucléaires dans le lait.

6° En dehors de l'interruption de l'allaitement, la réaction colostrale semble être liée à l'existence d'une polynucléose du lait, traduisant une irritation mammaire et subordonnée à une infection locale ou générale de la nourrice.

7° Si l'on excepte les polynucléaires, la plupart des éléments figurés du lait nous paraissent avoir une origine glandulaire.

Vu : le Président de thèse

MARFAN

Vu le Doyen

LANDOUZY

Vu et permis d'imprimer,
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris

L. LIARD

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BOURQUELOT. — Les ferments solubles. Paris, 1896.
- DUCRAUX. — *Traité de Microbiologie*, t. II. Diastases et Enzymes. Paris, 1898.
- MARFAN. — *Traité de l'allaitement*. Paris, 1903. Chapitre II, chapitre III, page 215.
- ARNOLD. — *Archives de Pharmacie*, 1881, juillet, n° 41.
- PORTIER. — Les oxydases dans la série animale. Leur rôle physiologique. *Thèse Paris*, 1897.
- DUPOUY. — *Thèse de Pharmacie*. Bordeaux, 1897. *Thèse de médecine*. Bordeaux, 1899.
- GILLET. — Le ferment oxydant du lait. *Journal de Physiologie et de pathologie générale*, 1902, 15 mai, tome IV, page 439.
- ROCHETTE. — Essai d'un procédé biochimique d'appréciation du lait des nourrices.
- MAURICE BINET. — Le ferment oxydant du lait chez la femme. (Réaction à la paraphénylène-diamine). *Thèse Lyon*, 1904.
- MARCHADIER. — Contribution à l'étude des ferments solubles oxydants indirects. *Thèse de pharmacie*. Paris, 1904-1905.

- CASSIN. — Sur la valeur clinique de la réaction des anacroxydoses dans le lait de femme. *Bulletin de la Société de médecine de Vaucluse*, 1908.
- BENOIT. — Contribution à l'étude des ferments solubles du lait de femme. *Thèse Montpellier*, 1903.
- THOMAS. — *Bulletin de l'Institut Pasteur* (30 janvier 1909).
Les diastases. Méthodes de recherches, procédés d'étude.
- WEILL ET THEVENET. — *Archives de médecine des enfants*, 1903. (Des éléments figurés du colostrum et du lait chez la femme.)
- WALLICH. — *Annales de Gynécologie*, 1904, avril.
- WALLICH ET LEVADITI. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1905.
- NALLI. — *Revue d'Hygiène et de Médecine infantile*, 1909, n° 4.
- ALESSI ET CARAPELLE. — *Idem*, 1908.

